

Artículo Original / Original Article

Estudio comparativo de la actividad anti-fúngica de extractos secuenciales de *Fuchsia lycioides* contra *Candida* sp.

[Comparative study of the antifungal activity of sequential extracts of *Fuchsia lycioides* against *Candida* sp.]

Marcela Brito¹, Ana Maturana², Iván Montenegro², Bastián Said³, Ana Morales¹, Valeska Calderón¹,
Susana Flores¹, Manuel Martínez^{1,4} & Alejandro Madrid¹

¹Laboratorio de Productos Naturales y Síntesis Orgánica, Universidad de Playa Ancha, Valparaíso, Chile

²Laboratorio de bioensayos, Universidad de Valparaíso, Valparaíso, Chile

³Departamento de Química, Universidad Técnica Federico Santa María, Vitacura, Santiago, Chile

⁴Doctorado Interdisciplinario en Ciencias Ambientales, Universidad de Playa Ancha, Valparaíso, Chile

Reviewed by:

Janne Rojas
Universidad de los Andes
Venezuela

Julio Alarcon
Universidad del Bio Bio
Chile

Correspondence:

Alejandro MADRID:
alejandro.madrid@upla.cl

Section Biological activity

Received: 15 September 2020

Accepted: 25 January 2021

Accepted corrected: 7 March 2021

Published: 30 January 2022

Citation:

Brito M, Maturana A, Montenegro I, Said B, Morales A,
Calderón V, Flores S, Martínez M, Madrid A.
Estudio comparativo de la actividad anti-fúngica de
extractos secuenciales de *Fuchsia lycioides* contra
Candida sp.

Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat

21 (1): 123 - 130 (2022).

<https://doi.org/10.37360/blacpma.22.21.1.08>

Abstract: The genus *Fuchsia* is generally used in herbal preparations to treat conditions caused by microorganisms. Based on the popular use of this type of plants, the objective of this study was to obtain sequential extracts of increasing polarity from the branches of *Fuchsia lycioides* by maceration at room temperature and by the Soxhlet method at 60°C, to later evaluate the antifungal capacity of the extracts against different clinical isolates of the *Candida* genus. The ethyl acetate extract exhibited strong antifungal activity, selectively inhibiting *C. albicans* strains with MIC and CMF values of 10 and 15 µg/mL, respectively; comparable with the drug itraconazole®. The analysis of the extract by GC-MS showed a high concentration of terpenoids (mainly phytol) and phenylpropanoids (mainly cinnamic acid), possibly responsible for the antifungal activity of the ethyl acetate extract of *F. lycioides*.

Keywords: *Fuchsia lycioides*; Sequential extracts; *Candida albicans*; Terpenos; Phenylpropanoids.

Resumen: El género *Fuchsia* se usa generalmente en preparaciones de hierbas para tratar afecciones provocadas por microorganismos. En base al uso popular de este tipo de plantas, el objetivo de este estudio fue obtener los extractos secuenciales de polaridad creciente de las ramas de *Fuchsia lycioides* por maceración a temperatura ambiente y por el método Soxhlet a 60°C, para luego evaluar la capacidad antifúngica de los extractos frente a diferentes aislados clínicos del género *Candida*. El extracto de acetato de etilo exhibió una fuerte actividad antifúngica inhibiendo en forma selectiva las cepas de *C. albicans* con valores de CMI y de CMF de 10 y 15 µg/mL, respectivamente; comparables con el fármaco itraconazol®. El análisis del extracto por CG-EM mostró una alta concentración de terpenoides (principalmente fitol) y fenilpropanoides (principalmente ácido cinámico), posibles responsables de la actividad antifúngica del extracto de acetato de etilo de *F. lycioides*.

Palabras clave: *Fuchsia lycioides*; Extractos secuenciales; *Candida albicans*; Terpenos; Fenilpropanoides.

INTRODUCCIÓN

Las patologías provocadas por el género *Candida* cada día son más frecuentes y han constituido un problema de salud pública a nivel mundial. La OMS advirtió en su informe del año 2007 que las enfermedades infecciosas estaban resurgiendo a un ritmo que no se había visto antes (Minsal, 2007). Actualmente se conoce que algunos de estos microorganismos son parte de la microbiota normal del organismo, pero existen factores que provocan que puedan generar importantes patologías (Shinobu et al., 2007).

La candidiasis es una infección fúngica oportunista producida por levaduras del género *Candida*. Su incidencia se incrementa tanto en pacientes sanos como en inmunocomprometidos con VIH según el estudio de Montiel, 2004. El género *Candida* tiene más de 150 especies y 18 de ellas son patógenas para el ser humano, como se ha determinado en estudios de aislamiento de pacientes clínicos, la especie *Candida albicans* fue responsable de 70% de los casos (Nguyen et al., 1996). Sin embargo, durante los últimos años la proliferación de cepas de *Candida* diferente a la *albicans* ha aumentado de forma constante (Wingard, 1995), entre ellas, *C. glabrata* presenta una alta mortalidad en pacientes con tumores, *C. tropicalis* afecta preferentemente a pacientes leucémicos (González et al., 1996), *C. dubliniensis* se asocia a pacientes infectados por el VIH generando candidiasis oral (Gutiérrez et al., 2002), *C. guilliermondii* y *C. lusitaniae* se asocian a pacientes con deficiencias cardíacas (Sanchez et al., 1992).

Además, estas levaduras patógenas han presentado una gran resistencia a la familia de compuestos azólicos como es fluconazol, principal fármaco descrito para el tratamiento de estas especies. En estudio recientes se ha demostrado que la resistencia se debe en gran parte a la capacidad mostrada por el género *Candida* de adaptarse al cuerpo del huésped que lo contiene (Tiraboschi et al., 2017).

La gran resistencia mostrada por estos microorganismos, ha llevado a los investigadores a buscar alternativas a los fármacos actuales, elaborando y desarrollando nuevos fármacos a partir de productos naturales. Estos estudios se han basado en los conocimientos ancestrales de la medicina de los pueblos originarios, como por ejemplo el pueblo Mapuche (Saad et al., 2010).

En este contexto, *Fuchsia lycioides* Andrews (*Fuchsia rosea* Ruiz & Pav.) es una planta

perteneciente a la familia Onagraceae. Es un arbusto nativo de Chile, y se cultiva como planta ornamental en varias partes del mundo. La planta es un arbusto caduco facultativo (que puede perder sus hojas, en caso de enfrentar sequías) de alrededor de 2 a 3 metros de altura, con ramas leñosas que se encuentra entre Atacama y la región Metropolitana. Crece hasta 1500 m de altura, vive preferentemente en las cercanías del mar, en sitios soleados. Soporta bien la sal y olas de calor, y crece con la mínima humedad disponible (Rodríguez et al., 2018). Es comúnmente conocida como “palo falso”, “palo de yegua” o “coralito” (Hoffman, 1998; Rodríguez et al., 2018). Esta planta desde un punto de vista etnofarmacológico presenta efectos como diurético, emenagogo y febrífugo (Houghton & Manby, 1985; Villaseñor y Ramírez, 2016). Sin embargo, estudios sobre la composición química y las propiedades antioxidantes y anti-fúngicas de otras especies del género *Fuchsia* han revelado que tanto las hojas como las ramas tienen un alto contenido de fenoles y taninos los que han presentado una potente actividad anti-fúngica ante una alta gama de microorganismos patógenos (Averett et al., 1986; Padilla y Paucar, 2008). En este contexto, en ningún estudio anterior se ha determinado la actividad anti-fúngica y no se ha evaluado la contribución de los diferentes extractos secuenciales en las propiedades antimicrobianas de las ramas de *F. lycioides*. Así pues, el objetivo de este estudio fue evaluar la actividad anti-fúngica *in vitro* de los extractos secuenciales de polaridad creciente obtenidos bajo dos métodos de extracción de las ramas de *F. lycioides* frente a tres especies del género *Candida* sp.

MATERIALES Y METODOS

Material vegetal

Fuchsia lycioides fue recolectada durante su temporada de floración (mayo 2019), en la localidad de Los Molles (32°14'22"S 71°30'54"O), comuna de la Ligua, región de Valparaíso, Chile. La planta fue reconocida por el ingeniero forestal y experto botánico Patricio Novoa y un espécimen (Voucher, Fl-01519) fue depositado en el Herbario del Laboratorio de Productos Naturales y Síntesis Orgánica 'LPNSO', Departamento de Química, Universidad de Playa Ancha, Valparaíso, Chile.

Obtención de los extractos

1,0 Kg de tallo fresco de *F. lycioides* se secó a temperatura ambiente durante dos semanas en

ausencia de luz. Posteriormente, 540,7 g de material vegetal fue triturado y sometido a extracciones secuenciales de polaridad creciente (hexano (Hex), diclorometano (DCM), acetato de etilo (AcOEt) y etanol (EtOH)) a temperatura ambiente. Paralelamente, se realizaron extracciones secuenciales de polaridad creciente (Hex, DCM, AcOEt y EtOH) en caliente utilizando 180 g de material mediante un aparato del tipo Soxhlet (Pabón, 2013) por 4 horas a 60°C para cada solvente. En ambos procesos las soluciones finales fueron filtradas y concentradas en un evaporador rotatorio a 35°C.

Composición del extracto activo

El extracto AcOEt fue diluido con acetato de etilo, 1 µL fue analizado mediante el uso de un cromatógrafo de gases Hewlett-Packard GC/MS 6890, acoplado a un espectrómetro de masas de impacto electrónico (70eV) Hewlett-Packard 5973, equipado con una columna capilar HP-5 MS, según el protocolo descrito anteriormente (Canales et al., 2016). Las condiciones de trabajo fueron las siguientes: temperatura del inyector 250°C, temperatura del detector, 280°C; gas portador, He a 1,0 mL/min; programa de temperatura del horno: 40°C durante 5 min, aumentar a 260°C a 5°C/min, y luego 260°C durante 5 min. Los compuestos en el cromatograma se identificaron por comparación de sus espectros de masa con los de la base de datos NIST 2014, y mediante la comparación de sus índices de retención (Kovats) con los reportados en la literatura (Adams, 2017).

Determinación de la actividad anti-fúngica

Los distintos extractos secuenciales *F. lycioides* fueron ensayados contra de tres cepas de aislamientos clínicos obtenidos del Hospital Base de Valdivia, las cepas ensayadas fueron *C. albicans* 10935, *C. glabrata* 10912 y *C. tropicalis* 9841. Todos los aislamientos se obtuvieron de sangre u otros sitios normalmente estériles y representaron episodios infecciosos individuales. Los aislamientos fueron mantenidos e identificados según protocolos establecidos (Madrid et al., 2012).

La Concentración Inhibitoria Mínima (CMI) se determinó por el método de microdilución para la levadura (NCCLS/CLSI, 2008) M27-A3. Brevemente, los cultivos de todas las levaduras se colocaron en Agar de Dextrosa Sabouraud (ADS) y se incubaron durante 24-72 h a una temperatura de 37°C. Las colonias de este cultivo se suspendieron en

NaCl estéril al 0,85% y el inóculo se estandarizó según la escala de 0,5 McFarland (1-5 10⁶ UFC/mL). El test antimicótico fue realizado en placas de 96 pozos. Las cepas de levadura fueron preparadas en agua estéril y se diluyeron en el medio RPMI 1640 (excepto en el control de esterilidad). Los extractos se disolvieron en dimetilsulfóxido (DMSO) a concentraciones finales de 25 a 0,25 g/mL. La concentración mínima inhibitoria (CMI) se determinó visualmente, después de 24 h de incubación, como la concentración más baja de droga que causó una disminución significativa del crecimiento ($\geq 50\%$ de inhibición) por debajo de los niveles de control (Pfaller et al., 2006).

Aplicando el método establecido, la concentración mínima fungicida (CMF) se determinó como una sub-cultura de 2 µL de cada uno de los pozos que no mostraron crecimiento y fueron incubados durante 72 h a 35°C. Se definió la concentración más baja sin crecimiento visible como CMF que indica el 99,5% de muerte del inóculo original. Flucanazol® e Itraconazol® (Sigma), fueron utilizados como controles positivos. Todos los experimentos se realizaron por duplicado y se repitieron tres veces para su reproducibilidad.

Análisis estadístico

Los datos sobre los efectos inhibitorios de los extractos, Fluconazol® e Itraconazol® en el crecimiento de las especies de *Candida* se sometieron al análisis de varianza (ANOVA) en todos los datos con una prueba post hoc de Tukey ($p < 0.05$), mediante el programa STATISTICA 7.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Rendimiento de extracción

Los rendimientos de extracción obtenidos mediante ambas técnicas se detallan en la Tabla N° 1.

El mayor rendimiento de extracción se logró con etanol mientras que el menor rendimiento fue para hexano en ambas metodologías, en este contexto el rendimiento obtenido se confirma que depende en gran medida de la polaridad del disolvente utilizado y de otros factores como la composición química de los compuestos a extraer, de la cantidad y posición de sus grupos hidroxilo, del tamaño molecular, así como de factores como la concentración del solvente, temperatura, tiempo de contacto, tamaño de partícula y relación masa-solvente, entre otros (Aspé y Fernández, 2011; Gironi y Piemonte, 2011; Amyrgialaki et al., 2014; Capriotti et al., 2014).

Tabla N° 1
Rendimiento de extractos de *F. lycioides*

Extracto	Temperatura			
	Ambiente		60 °C	
	Masa (g)	Rendimiento (%)	Masa (g)	Rendimiento (%)
Hex	1,40	0,26	1,05	0,58
DCM	1,82	0,34	1,69	0,94
AcOEt	2,07	0,38	1,07	0,60
EtOH	2,17	0,40	1,78	0,99

Por otra parte, los extractos en caliente superan de 2 a 3 veces el porcentaje rendimiento debido al aumento en el movimiento de las moléculas del disolvente aumentando el grado de fragmentación del extracto vegetal en comparación con su análogo a temperatura ambiente (Casas *et al.*, 2005).

Composición del extracto de AcOEt

Los resultados del análisis de la cromatografía de gases del extracto de AcOEt de las ramas de *F. lycioides* se resumen en Tabla N° 2.

Tabla N° 2
Componentes mayoritarios del extracto de AcOEt de *F. lycioides*

No.	componentes	% Area ^a	IR ^b	IRref ^c	Identificación
1	Sabineno	0,83	973	974	RI, EM
2	3-Careno	3,23	1009	1011	RI, EM
3	Limoneno	1,27	1030	1031	RI, EM
4	Citronelol	2,67	1229	1228	RI, EM
5	siringol	1,79	1350	1353	RI, EM
6	Acetato de nerilo	1,89	1373	1376	RI, EM
7	1-Tetradeceno	3,78	1392	1394	RI, EM
8	Acido cinámico	7,86	1427	1428	RI, EM, Co-I
9	Germacreno D	2,03	1482	1480	RI, EM
10	Oxido de cariofileno	6,81	1581	1581	RI, EM
11	3-Octadeceno	3,98	1896	1896	RI, EM
12	Acido hexadecanoico	1,09	1980	1984	RI, EM
13	Fitol	9,89	2136	2138	RI, EM
14	1-Hexacosanol	1,84	2845	2848	RI, EM
15	Quercetina	2,21	3178	3176	RI, EM, Co-I
16	Miricetina	3,07	3201	3205	RI, EM, Co-I
17	Lupeol	2,05	3266	3270	RI, EM
18	Lanosterol	1,21	3390	3393	RI, EM
	Desconocido	42,50			

^a Superficie del pico del GC/MS; ^bIR: Índices de retención relativos a los n-alcenos C₈-C₃₆ en la columna capilar HP-5; ^cIR: Índice de retención de la literatura (Adams, 2017); Co: coelución con compuestos estándar disponibles en nuestro laboratorio.

Los 18 compuestos identificados representan el 57,50% del área total del extracto. La distribución de las familias químicas presentes en el extracto se resume en los terpenoides fracción predominante con un 31,88%, derivados de ácidos grasos e hidrocarburos 10,69%, derivados fenólicos 9,65% y flavonoides 5,12%. Se identificó como compuesto mayoritario al fitol 9,89%, seguido ácido cinámico,

óxido de cariofileno, 3-octadeceno, 1-tetradeceno, 3-careno y miricetina, con 7,86%, 6,81%, 3,98%, 3,78%, 3,23%, y 3,07% respectivamente.

Ensayos anti-fúngicos

Las actividades anti-fúngicas de los diferentes extractos de *F. lycioides* y de los anti-fúngicos de referencia se resumen en la Tabla N° 3.

Tabla N° 3
CMI y MFC ($\mu\text{g}/\text{mL}$) de los diferentes extractos de *F. lycioides*

Extractos	<i>C. albicans</i>	
	CMI	CMF
1	Hex	25
	DCM	15
	AcOEt	10
	EtOH	>25
2	Hex	25
	DCM	15
	AcOEt	10
	EtOH	>25
Fluconazol®	1	2,5
Itraconazol®	10	15

1: Extractos a Temperatura ambiente, 2: Extractos a 60°C

En la Tabla N° 3, se presentan solo los resultados obtenidos para *C. albicans* debido a que las otras especies estudiadas presentaron resistencia a los extractos de *F. lycioides*, en base a estos valores se puede deducir que las especies del género *Candida* presentan diferencias metabólicas entre sí (Pardo et al., 2011), estableciendo que los ensayos realizados indican que a los extractos de *F. lycioides* son selectivos para *C. albicans*. Además, se esperaba que los extractos a 60°C, presentasen una actividad antifúngica mayor a los obtenidos a temperatura ambiente, debido a una mayor concentración de metabolitos, sin embargo, se ha descrito que los metabolitos con características antifúngicas pueden tender a experimentar un efecto antagonista cuando se encuentran en altas concentraciones en un extracto natural (Adirano et al., 2018). Por otro lado, se puede destacar que los extractos de AcOEt a temperatura ambiente como a 60°C fueron los más activos frente a la cepa de *C. albicans* estudiada con valores de CMI y CMF de 10 y 15 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectivamente; seguido de los extractos de DCM con valores de CMI y CMF de 15 y 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectivamente. Este efecto se debería principalmente a la presencia del alcohol diterpénico acíclico fitol, el cual le otorgaría al

extracto de *F. lycioides*, una fuerte acción anti-levaduriforme debido a que provoca la permeabilización de las membranas mitocondriales externas e internas de las células eucariotas causando esencialmente la muerte celular por apoptosis y necrosis. Además, los procesos subsiguientes pueden tener una acción pro-oxidativa, causando la aparición tardía tanto de la apoptosis como de la necrosis (Islam et al., 2018). Tales efectos podrían ser la base de la actividad de fitol contra hongos patógenos como son *Candida albicans* y *Aspergillus niger* (Ghaneian et al., 2015). Además, en anteriores reportes fitol fue evaluado contra una serie cepas fúngicas con resultados significativos principalmente frente a *Trichoderma viride*, *Aspergillus versicolor* y *Penicillium ochrochloron*, con valores superiores a los controles positivos Bifonazol® y Ketoconazol® (Pejin et al., 2014). Además, se ha determinado que la presencia de derivados de fenilpropanoides como son el ácido cinámico, compuesto que estudios recientes ha mostrado una potente actividad antifúngica frente a cepas *Candida albicans* (Lima et al., 2018) y en menor medida frente a cepas del hongo fitopatógeno *Fusarium* sp. (Necha y Barrera, 2009). Sin embargo, derivados de ácido cinámico y p-

cumarico presentes en las partes aéreas de este género de plantas emparentadas directamente con *F. lycioides* como son *F. magellanica* y *F. triphylla* son potentes anti-fúngicos frente a levaduras patógenas (Lima et al., 2018). Además, se ha demostrado que la presencia de triterpenos en los extractos como lupeol y lanosterol contribuyen a la acción antifúngica de plantas medicinales como *Curtisia dentata* (Shai et al., 2008) y *Croton macrostachyus* (Obey et al., 2016). Estos resultados confirman que extractos de polaridad intermedia presentan metabolitos secundarios capaces de atravesar con mayor facilidad la pared celular de los hongos levaduriformes (Gómez et al., 2003), entre estos metabolitos destacan los flavonoides miricetina, quercetina presentes en el extracto de acetato de etilo de *F. lycioides*, como a su vez, rhamnocitrina y kaempferol, presentes en otras especies del género *Fuchsia* (Csepregi et al., 2020), los cuales han presentado una potente actividad anti-fúngica frente a aislado orales de *C. albicans* (Silva et al., 2017). Los flavonoides son generalmente extraídos con solventes semi-polares (Pérez et al., 2013), y una serie de diferentes investigaciones han demostrado la capacidad para inhibir el crecimiento celular de un

gran grupo de microorganismos fúngicos (Damián et al., 2016; Bernal, 2017).

Por otra parte, los valores presentados tanto por los extractos de AcOEt y DCM de *F. lycioides* se encuentran dentro de los rangos de inhibición micótica comparables con itraconazol y diez veces menos potente que fluconazol. Finalmente, según la OMS los extractos que presentan un CMI inferior a 100 µg/mL son relevantes para continuar con los estudios (Joray et al., 2015), tales como, estudios enfocados en la composición fitoquímica de la especie *F. lycioides* y el mecanismo de muerte de las cepas de *C. albicans*.

CONCLUSIÓN

Por primera vez se ha informado de la actividad anti-fúngica de los extractos secuenciales *F. lycioides* frente a cepas del género *Candida*, en la que el extracto de AcOEt fue el más activo y comparable con los controles positivos. Esta especie se presenta como una alternativa natural selectiva para *C. albicans* y se presenta como una fuente natural de extracción de nuevos y conocidos metabolitos anti-fúngicos.

REFERENCIAS

- Adams PR 2017. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry**. Allured Publishing Corp.: Illinois, USA.
- Amyrgialaki E, Makris DP, Mauromoustakos A, Kefalas P. 2014. Optimisation of the extraction of pomegranate (*Punica granatum*) husk phenolics using water/ethanol solvent systems and response surface methodology. **Ind Crop Prod** 59: 216 - 222. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.05.011>
- Adirano M, Mejía J, Ovando I, Albores V, Salvador M. 2018. Effect of alcoholic extracts of garlic (*Allium sativum*) and clove (*Syzygium aromaticum*) on the development of *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. **Rev Mex Fitopatol** 36: 379 - 393. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1805-2>
- Aspé E, Fernández K. 2011. Comparison of phenolic extracts obtained of *Pinus radiata* bark from pulp and paper industry and sawmill industry. **Maderas: Ciencia y Tecnología** 13: 243 - 252. <https://doi.org/10.4067/s0718-221x2011000300001>
- Averett J, Hahn W, Berry P, Rayen P. 1986. flavonoids and flavonoid evolution in *Fuchsia* (Onagraceae). **Amer J Bot** 73: 1525 - 1534. <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1986.tb10902.x>
- Bernal A. 2017. **Estudio etnofarmacológico y morfoanatómico de *Fuchsia magallánica* Lam.** Tesis, Universidad Nacional de La Plata, Argentina. <https://doi.org/10.35537/10915/63416>
- Canales N, Montenegro I, Párraga M, Olguín Y, Godoy P, Werner E, Madrid A. 2016. *In vitro* antimicrobial activity of *Embothrium coccineum* used as traditional medicine in Patagonia against multiresistant bacteria. **Molecules** 21: 1441. <https://doi.org/10.3390/molecules21111441>
- Capriotti A, Cavaliere C, Crescenzi C, Foglia P, Nescatelli R, Samperi R, Lagana A. 2014. Comparison of extraction methods for the identification and quantification of polyphenols in virgin olive oil by ultra-HPLC-QToF mass spectrometry. **Food Chemistry**. 158: 392 - 400. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.130>
- Casas L, Mantell C, Rodríguez M, Torres A; Macías F, Martínez E, Ulloa H. 2005. Extracción y separación de sustancias bioactivas a partir de hojas de *Helianthus Annuus L.* **Rev Cub Quím** 3: 216 - 222.
- Csepregi R., Temesfői V, Das S, Alberti Á, Tóth C, Herczeg R., Papp N, Kőszegi T. 2020. Cytotoxic,

- antimicrobial, antioxidant properties and effects on cell migration of phenolic compounds of selected Transylvanian medicinal plants. **Antioxidants** 9: 166. <https://doi.org/10.3390/antiox9020166>
- Damián A, González J, Chávez M. 2016. Procedimientos actuales para la extracción y purificación de flavonoides cítricos. **Rev Colomb Biotecnol** 2916: 135 - 147. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v18n1.57724>
- Ghaneian M, Ehrampoush M, Jebali A, Hekmatimoghaddam S, Mahmoudi M. 2015. Antimicrobial activity, toxicity and stability of phytol as a novel surface disinfectant. **Environ Heal Eng Manag J** 2: 13 - 16.
- González C, Venzon D, Lee S, Mueller BU, Pizzo PA, Walsh TJ. 1996. Risk factors for fungemia in pediatric HIV-infection: a case control study. **Clin Infect Dis** 23: 515 - 521. <https://doi.org/10.1093/clinids/23.3.515>
- Gutierrez J, Morales P, González M, Quindós G. 2002. *Candida dubliniensis*, a new fungal pathogen. **J Basic Microbiol** 42: 207 - 227. [https://doi.org/10.1002/1521-4028\(200206\)42:3<207::aid-jobm207>3.0.co;2-c](https://doi.org/10.1002/1521-4028(200206)42:3<207::aid-jobm207>3.0.co;2-c)
- Gironi F, Piemonte V. 2011. Temperature and solvent effects on polyphenol extraction process from chestnut tree wood. **Chem Eng Res Des** 89: 857 - 862. <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2010.11.003>
- Gómez Y, Hidalgo J, Jiménez M, Salcedo J. 2003. Obtención de extractos orgánicos con actividad antimicrobiana a partir de *Penicillium* sp. (Moniliales) aislado de la esponja *Ircinia felix* (Porifera: Demospongiae). **Rev Biol Trop** 51: 141 - 147.
- Hoffmann A. 1998. Flora silvestre de Chile, Zona Central. Fundación Claudio Gay, Santiago, Chile.
- Houghton P, Manby J. 1985. Medicinal plants of the Mapuche. **J Ethnopharmacol** 13: 89 - 103.
- Islam M, Ali E, Uddin S, Shaw S, Islam M, Ahmed M, Chandra Shill M, Karmakar U, Yarla N, Khan I, Billah MM, Pieczynska MD, Zengin G, Malainer C, Nicoletti F, Gulei D, Berindan-Neagoe I, Apostolov A, Banach M, Yeung AWK, El-Demerdash A, Xiao J, Dey P, Yele S, Józwick A, Strzałkowska N, Marchewka J, Rengasamy KRR, Horbańczuk J, Kamal MA, Mubarak MS, Mishra SK, Shilpi JA, Atanasov AG. 2018. Phytol: A review of biomedical activitie. **Food Chem Toxicol** 121: 82 - 94. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.08.032>
- Joray M, Trucco L, González M, Díaz G, Palacios S, Bocco J, Carpinella M. 2015. Antibacterial and cytotoxic activity of compounds isolated from *Flourensia oolepis*, **Evid-Based Complement Altern Med** 2015: Article ID 912484 <https://doi.org/10.1155/2015/912484>
- Lima T, Ferreira A, Silva D, Lima E, Sousa D. 2018. Antifungal activity of cinnamic acid and benzoic acid esters against *Candida albicans* strains. **Nat Prod Res** 32: 572 - 575. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1317776>
- Madrid A, Espinoza L, González C, Mellado M, Villena J, Santander R, Silva V, Montenegro I. 2012. Antifungal study of the resinous exudate and of meroterpenoids isolated from *Psoralea glandulosa* (Fabaceae). **J Ethnopharmacol** 144: 809 - 811. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.10.027>
- Minsal (Ministerio de Salud de Chile). 2007. **Boletín N° 9 de Farmacovigilancia**. <https://www.ispch.cl/newsfarmacovigilancia/09/boletin09.html>
- Montiel H. 2004. Patógenos emergentes en micosis cutáneas y sistémicas. **Dermatol Ven** 42.
- Necha B, Barrera G. 2009. Actividad antifúngica de aceites esenciales y sus compuestos sobre el crecimiento de *Fusarium* sp. aislado de papaya (*Carica papaya*). **Revista UDO Agrícola** 8: 33 - 41.
- Nguyen M, Peacock J, Morris A, Tanner DC, Nguyen ML, Snyderman DR, Wagener MM, Rinaldi MG, Yu VL. 1996. The changing face of candidemia: emergence of non- *Candida albicans* species and antifungal resistance. **Am J Med** 100: 617 - 623. [https://doi.org/10.1016/s0002-9343\(95\)00010-0](https://doi.org/10.1016/s0002-9343(95)00010-0)
- Obey J, von Wright A, Orjala J, Kauhanen J, Tikkanen-Kaukanen C. 2016. Antimicrobial activity of Croton macrostachyus Stem bark extracts against several human pathogenic bacteria. **J Pathol** 2016: Article ID 1453428. <https://doi.org/10.1155/2016/1453428>
- Padilla E, Paucar V. 2008. **Estudio de las propiedades antioxidantes in vitro de 10 plantas medicinales nativas del ABVP Aguarongo, Provincia del Azuay**. Tesis, Universidad del Azuay, Cuenca, Ecuador.
- Pabón L, Vanegas J, Rendón M, Santos R, Hernández P. 2013. Actividad antioxidante y antibacteriana de extractos de hojas de cuatro especies agroforestales de la Orinoquía colombiana. **Rev Cub Plant Med** 18: 57 - 70.
- Pardo AK, Arenas J, Gómez M, Lora F, Gómez J. 2011. Determination of antifungal activity of extracts of *Lantana camara* against *Candida* spp. **Infectio** 15: 235 - 242. [https://doi.org/10.1016/s0123-9392\(11\)70737-8](https://doi.org/10.1016/s0123-9392(11)70737-8)
- Pejin B, Savic A, Sokovic M, Glamoclija J, Ciric A, Nikolic M, Radotic K, Mojovic M. 2014. Further *in vitro* evaluation of antiradical and antimicrobial activities of phytol, **Nat Prod Res** 28: 372 - 376.

- <https://doi.org/10.1080/14786419.2013.869692>
Pérez V, Lugo E, Gutiérrez M, Del Toro C. 2013. Extracción de compuestos fenólicos de la cascara de lima (*Citrus limetta* Risso) y determinación de su actividad antioxidante. **Biotechnia** 3: 18 - 22.
- Pfaller M, Boyken L, Hollis R., Messer S, Tendolka S, Diekema D. 2006. *In vitro* susceptibilities of *Candida* spp. to caspofungin: four years of global surveillance. **J Clin Microbiol** 44: 760 - 763.
<https://doi.org/10.1128/jcm.44.3.760-763.2006>
- Rodriguez R, Marticorena C, Alarcón D, Baeza C, Cavieres L, Finot VL., Fuentes N, Kiessling A, Mihoc M, Pauchard A, Ruiz E, Sanchez P, Marticorena A. 2018. Catálogo de las plantas vasculares de Chile. **Gayana Bot** 75: 1 - 430. <https://doi.org/10.4067/s0717-66432018000100001>
- Saad A, Fadli M, Bouaziz M, Benharref A, Mezrioui N, Hassani L. 2010. Anticandidal activity of the essential oils of *Thymus maroccanus* and *Thymus broussonetii* and their synergism with amphotericin B and fluconazol. **Phytomedicine** 17: 1057 - 1060. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2010.03.020>
- Sanchez V, Vasquez J, Barth-Jones D, Dembry L, Sobel JD, Zervos MJ. 1992. Epidemiology of nosocomial acquisition of *Candida lusitanae*. **J Clin Microbiol** 30: 305 - 308.
<https://doi.org/10.1128/jcm.30.11.3005-3008.1992>
- Shai L, McGaw L, Aderogba M, Mdee L, Eloff J. 2008. Four pentacyclic triterpenoids with antifungal and antibacterial activity from *Curtisia dentata* (Burm.f) C.A. Sm. leaves. **J Ethnopharmacol** 119: 238 - 244.
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.06.036>
- Shinobu C, Ogatta S, Bizerra F, Furlaneto L, Peralta R, Svidzinski T, Consolaro M. 2007. Lack of association between genotypes and virulence factors in *C. albicans* strains isolated from vaginal secretion. **Braz J Microbiol** 38: 467 - 471. <https://doi.org/10.1590/s1517-83822007000300015>
- Silva J, Peres A, Paixão T, Silva A, Baetas A, Barbosa W, Monteiro M., Andrade M. 2017. Antifungal activity of hydroalcoholic extract of *Chrysobalanus icaco* against oral clinical isolates of *Candida* species. **Pharmacogn Res** 9: 96 - 100. <https://doi.org/10.4103/0974-8490.199772>
- Tiraboschi I, Pozzi N, Farias L, Garcia S, Fernández N. 2017. Epidemiology, species, antifungal resistance and outcome of candidemia in a university hospital in Buenos Aires, Argentina for 16 years. **Rev Chil Infectol** 34: 431 - 440. <https://doi.org/10.4067/s0716-10182017000500431>
- Villaseñor R, Ramírez P. 2016. **Guía para el reconocimiento de especies del Santuario de la Naturaleza Acontilados Federico Santa María**. Universidad de Playa Ancha. Valparaíso, Chile.
- Wingard J. 1995. Importance of *Candida* species other than *C. albicans* as pathogens in oncology patients. **Clin Infect Dis** 20: 115 - 125. <https://doi.org/10.1093/clinids/20.1.115>